BIOLOGIE CELLULAIRE

★ PRESENTATION DU MONDE VIVANT

I) Les procaryotes

Les procaryotes englobent toutes les bactéries, ce sont des organismes unicellulaires, leurs cellules sont de structure simple mais variée biochimiquement. Les bactéries sont les plus simples de tous les organismes que l'on trouve dans la plupart des environnements naturels.

Elles sont de forme sphérique (coques), de bâtonnet (bacilles) ou en forme de spirale (figure I3 a.)

Leur dimension est de quelque micron (mm.) Elles sont souvent entourées d'une coque protectrice, la paroi, sous laquelle se trouve la membrane plasmique qui délimité le cytoplasme qui est un compartiment interne unique. Dans le cytoplasme se trouve l'ADN, l'ARN, les protéines et d'autres petites molécules : toutes les molécules nécessaires à la cellule. Par microscopie électronique, le cytoplasme apparaît comme une matrice de texture variable sans aucune structure interne organisée évidente. (figure I3 b)

Les bactéries peuvent se répliquer rapidement en se divisant simplement en deux pas scissiparité, cela est un avantage pour s'adapter aux modifications de l'environnement. Dans la nature, les bactéries vivent dans une variété considérable de niches écologiques.

On distingue deux grands groupes de parentés éloignées : les eubactéries (forme courante, habitant le sol, l'eau, et les organismes vivants) et les archéobactéries (qui vivent dans les environnements très inhospitaliers (fonds océaniques, source chaude acide, marée…))

Il existe des espèces bactérielles capables d'utiliser éventuellement n'importe quelle molécule organique comme aliment (glucides, acides aminées, graisses, hydrocarbures.) Certaines bactéries peuvent utiliser le CO_2 ambiant comme source de carbone et d'autres le gaz N_2 ambiant comme source d'azote.

En dépit de leur relative simplicité, les bactéries ont survécu depuis plus longtemps que n'importe quels autres organismes et constituent le type cellulaire le plus abondant sur terre.

A) Les différents types de bactéries

1er type : Les eubactéries, elles représentent la majorité des bactéries et c'est d'elle dont il s'agira lorsque l'on parlera de bactéries.

2ème type : Les archéobactéries : moins bien connues, que l'on qualifie de « bactéries de l'extrême » (figure I4.)

1) Relations symbiotiques

Certaines bactéries peuvent vivre en symbiose (=vivre avec) en pratiquant le mutualisme[1], le commensalisme[2] ou le parasitisme[3].

Définitions :
(1) On appelle mutualisme, une relation symbiotique qui profite aux deux espèces concernées.
(2) Relation symbiotique dans laquelle une espèce tire profit d'une autre espèce sans lui causer de préjudice.
(3) Relation symbiotique au cours de laquelle une espèce nuit à une autre espèce (l'hôte) pour croître et se reproduire.

Exemples :
(1) Bactéries fixatrices d'azote, ce sont des bactéries capables de transformer l'azote N_2 atmosphérique en azote organique NH_3 utilisable par la plante qui héberge ces bactéries. On les trouve dans les racines de plantes tel le soja, le trèfle, la luzerne…
(2) Bactéries commensales, on les trouve dans la bouche, la gorge, le nez, sur la peau ; certaines participent à la digestion, à la fabrication de vitamines (dans l'intestin), à la digestion de la cellulose (chez les ruminants, cela leur permettant de digérer l'herbe.)
(3) Staphylocoque doré (Staphylococcus Aureus), Mycobacterium Tuberculosis, Bacillus Anthracis.

2) Bactéries auxiliaires industrielles

Étant donné leurs capacités métaboliques, les bactéries sont utilisées dans l'alimentation (fromage, yaourt.) En biotechnologie, les bactéries sont utilisées pour fabriquer des antibiotiques, des vitamines, pour digérer nos déchets des huiles lourdes. On peut les transformer génétiquement pour leur faire fabriquer l'insuline humaine ou encore l'hormone de croissance.

3) Bactéries « de laboratoires »

En recherche, les travaux portent sur plusieurs espèces mais l'espèce de laboratoire type est l'« Escherichia coli » : E. coli (genre = majuscule, espèce = minuscule) L'Escherichia coli (figure I3 a) est une bactérie en forme de bâtonnet et on la trouve normalement dans le colon des êtres humains et autres mammifères. Elles prolifèrent également dans le sol et les lacs d'eau douce. Quand on l'utilise, on tire profit de la simplicité de son milieu de culture et également de sa vitesse de division. A condition favorable, elle se divise toutes les 20 minutes. Les souches utilisées sont non pathogènes.

Pathogène = capable de générer la maladie.
Virulente = lors de l'entrée dans un être vivant, cause la maladie.
4) Mycoplasmes

Ces bactéries se distinguent des autres bactéries :
- Par leur taille, ce sont les plus simples et plus petites bactéries et donc cellules connues actuellement,
- Car elles sont dépourvues de paroi,
- De ce fait, on parle de « bactéries dégénérées »,
- Par leur structure mycélienne : le nom « Mycoplasme » signifie « en forme de champignon. » Ce sont donc des cellules capables de s'associer pour former des mycélias. Ce sont des cellules qui présentent un polymorphisme à noter puisqu'elles peuvent être sphériques et globuleuses et d'autres en forme de bâtonnet.
- Elles vivent en association avec des cellules animales et végétales. Chez l'homme, on les a cherchées et isolées dans les cavités buccales et les voies respiratoires, dans la moelle et le sang. Leur pouvoir pathogène est très controversé. L'espèce dont la pathogénisité a été montrée pour l'homme est la Mycoplasma Pneumaniae.

Remarque : des nanobactéries ont récemment été identifiées et seraient, elles, les plus petites.

B) Organisation générale des cellules bactériennes

1) Éléments principaux

a) Enveloppe

Pendant longtemps, on a considéré la cellule bactérienne comme un « sac d'enzymes. » Le pouvoir de résolution des microscopes optiques ou photoniques n'était pas suffisant pour relever les détails de structures. C'est le développement de la microscopie électronique et ces différentes applications qui a permit d'étudier la structure fine des bactéries, on a notamment pu observer les différentes couches composant l'enveloppe de la cellule.
On distingue les bactéries en deux groupes sur la base d'une technique de coloration : la coloration de Gram, technique mise en place en 1884 par Christian Gram. Les bactéries sont appelées « bactéries Gram+ », « bactéries à Gram positif », « bactéries Gram positives » pour les unes, et les autres « bactéries Gram- », « bactéries à Gram négatif », « bactéries Gram négatives. »

Protocole :
On fixe les bactéries sur une lame de verres. Puis, on les colore au violet de gentiane (+ fixateur, solution iodo-iodurée.) Les bactéries sont violettes et on ajoute de l'alcool. Une partie se décolore, l'autre non. On effectue une contre-coloration avec de la fuschine. Les bactéries n'étant plus colorées se colorent en rose, on les dit « bactéries Gram-. » Les bactéries colorées en violet, ne se colorent pas en rose, on les dit « bactéries Gram+. »

Expérience supplémentaire :
On prend des bactéries Gram+ colorées en violet. On fait agir sur ses bactéries une enzyme, le lysozyme (qui dégradent la paroi.) On obtient des protoplastes violets. Et si on les traite à l'alcool, on obtient des protoplastes décolorés. On en déduit que le siège de coloration est le cytoplasme. C'est la paroi qui empêche l'alcool de pénétrer dans la cellule lors de l'expérience de Gram.

Conclusion : Les bactéries Gram+ (Staphylocoque, Streptocoque, par exemple) sont des bactéries qui sont entourées en plus de la membrane plasmique d'une couche épaisse appelée « la paroi. » Cette couche est constituée de peptidoglycane mureine, c'est un hétéropolymère caractéristique de toutes les bactéries sauf les mycoplastes. Elle est rigide, très résistante, et pourtant élastique. Elle protège la cellule et lui donne sa forme. Les bactéries Gram- (ex : E. coli) sont caractérisées par une paroi beaucoup plus mince (qui laisse passer l'alcool dans la coloration de Gram) et en plus ses bactéries ont une membrane externe, on y trouve des lypopolysaccharides (LPS.) (figure I5)

b) Chromosomes bactériens

Le cytoplasme sous-jacent à cette enveloppe est en général très homogène, il contient de nombreuses granulations : ribosomes, substances de réserve (glycogène) et surtout l'appareil nucléaire ou nucléoïde. On le distingue par son aspect fibrillaire, il n'est pas entouré d'une membrane (donc n'est pas un noyau.) De plus, il occupe une grande partie de l'espace cellulaire. Il est constitué d'ADN qui est le support des caractères héréditaires de la cellule. Pour cette raison, et par analogie avec les chromosomes eucaryotes, on parlera de chromosomes bactériens. En général, le chromosome bactérien est un filament unique, circulaire, formé d'une double hélice d'ADN fermement empaquetée.

Exemple, chez les E. coli :
La molécule d'ADN, on a bien affaire à une molécule circulaire double brin de molaire 3.109 Da (Dalton = g.mol-1.)
Le nombre de paires de nucléotides est = 5.106 (4,7.106.)
La longueur de l'ADN étiré = 1,3 mm. Une molécule d'ADN étirée de 1mm (micromètre) a une masse molaire de 2M Da (méga Dalton : 106) et possède 3kb (kilo base : 3.103 paires de nucléotide.)

2) Éléments supplémentaires
a) Au niveau de l'enveloppe

En plus de la paroi, les bactéries peuvent s'entourer de couches supplémentaires plus ou moins structurées qui vont participer à la protection de la cellule.

1-La capsule (glycocalyx)

C'est la plus anciennement décrite, c'est une couche fortement hydratée (80%) et riche en polysaccharides. En fonction des espèces bactériennes qui la possède et de l'environnement des cellules, cette capsule peut avoir différents aspects. Les polysaccharides excrétés peuvent, effectivement, être plus ou moins libérés dans le milieu. Dans le cas où il diffuse dans le milieu, la capsule n'a pas de contours bien définis et on parle de « couche muqueuse » (slime.) Les polysaccharides sont le support de propriété immunologique, la capsule joue aussi dans la pathogénisité de la bactérie.

2-Les couches S

Plus récemment décrite grâce au progrès de la microscopie électronique. Elle est constituée de protéines qui forme un rayonnage cristallin à deux dimensions. Les bactéries qui possèdent une couche S ont certains avantages sélectifs grâce aux fonctions de protection, de tamisage molécule ou encore d'adhésion des protéines.

3-Les filaments : les flagelles :

La mobilité est très répandue dans le domaine bactérien, on s'en sert d'argument taxonomique (=art de classer les bactéries.)
Les bacilles sont très fréquemment mobiles alors que les coques le sont rarement. L'organite responsable de la nage est le flagelle. A ne pas confondre avec le flagelle eucaryote qui est différent du point de vue de la structure et du mode de fonctionnement. Chez les eucaryotes, c'est l'ondulation du flagelle qui fait avancer, tandis que chez les procaryotes, il s'agit d'une rotation.

L'appareil flagellaire des bactéries se distingue par le nombre de flagelles et leur arrangement autour de la cellule. Les flagelles sont des filaments fins : diamètre d'environ 20nm, rigides, dont la longueur peut atteindre 10mm, c'est-à-dire une dizaine de fois la taille de la bactérie. Ils ne sont pas rectilignes, ni courbés au hasard, ils forment une hélice parfaite. Cette hélice est actionnée au niveau d'un moteur basal, inséré dans l'enveloppe de la bactérie.
Un flagelle comporte trois parties : le « filament hélicoïdal », une partie coudée appelée « le crochet » et une partie appelée « corpuscule basal » qui est la partie endocellulaire (figure I 7)
Le flagelle est composé de sous-unités protéiques formant une seule protéine, la flagelline ; grâce au mouvement de cette protéine, les bactéries avancent à des vitesses de quelques microns par seconde, à quelques dizaines de mm/sec voir quelques centaines. Les distances parcourues sont toujours très faibles et ceci du fait des contraintes exercées par des attractions ou des répulsions chimiotactiques.

Chimiotaxie :
Les bactéries sont sensibles à des gradients de concentration de certains composés. En absence de gradient, la bactérie nage de façon rectiligne sur une courte distance, elle pivote, et reprend sa marche dans une autre direction. Ce mouvement aléatoire peut se faire dans trois dimensions et de façon hasardeuse.
La chimiotaxie est la faculté qu'ont les bactéries de dévier de ce parcours rectiligne lorsqu'elles rencontrent un gradient de concentration d'une substance attractive (acide aminé not.) ou répulsive (produit chimique toxique). La chimiotaxie est positive lorsque les bactéries s'accumulent au niveau de forte concentration (figure I8) et négative dans le cas contraire. Des réponses chimiotactiques sont observées, dans la plupart des cas (sinon tous), chez les organismes mobiles.

Exemple : L'E. coli a un système chimiosensoriel composé de protéines réceptrices spécifiques, présente en grand nombre sur la surface cellulaire et dont l'activité détermine la réponse chimiotactile.

4-Fimbriae et pili

Ils représentent deux catégories de filaments :

FIMBRIAE	PILI
Filament présent en grand nombre autour des cellules qui les possèdent (centaines, milliers)	Peu nombreux (1, 4)
Filament fin : Ø 5 nm	Fin : de diamètre 8nm
Ils sont courts (~1mm) et rigides	Plus longs (~10mm)
Rôle : ils jouent un rôle dans l'adhésion des bactéries aux surfaces	Rôle: jouent un rôle dans le transfert d'ADN d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse.

On appelle ce transfert : conjugaison et de ce fait on peut assimiler les Pilis à des appendices sexuels.

Les Fimbriaes sont exprimés chez toutes les bactéries Gram- qui ont été examinées. Ils sont constitués de sous unité et sont encrés dans la membrane externe et on les observe rarement chez les Gram+.

b) En dehors de l'enveloppe
1-Les mésosomes

Les mésosomes sont des structures membranaires intracytoplasmiques qui sont une invagination de la membrane plasmique. Ils ont fait l'objet de nombreuses descriptions, leur forme peut être vésiculaire, tubulaire ou lamellaire. Beaucoup d'hypothèses ont été avancées sur ces structures et leur rôle. Il semblerait pourtant que ce soit des artefacts, c'est-à-dire que leur présence serait le résultat des opérations de fixation des cellules qui précède l'observation en microscopie électronique.

2-Les plasmides

L'essentiel des informations génétiques dans une bactérie est porté par le chromosome bactérien. Des informations importantes peuvent être apportées par des molécules d'ADN bicaténaires extrachromosomiques, on les appelle plasmides. Elles se caractérisent par une grande variété : leur taille peut varier de 1 à 400kb ; leur mode de reproduction est au nombre de 2 : â Mode sigma (s) ou en cercle roulant : ã Mode thêta (q) : Ils sont généralement circulaires et représentent 1 à 3% du génome. C'est-à-dire peu, c'est pourquoi on parle de « minichromosomes facultatifs. »

En réalité, une bactérie n'a pas besoin des informations qu'il apporte pour se développer dans son environnement habituel (« facultatif »)

Leurs rôles : Ils apportent aux bactéries qui les possèdent un avantage sélectif.
Exemple : Des plasmides de résistance aux antibiotiques, ce sont des plasmides qui ont des gènes qui sont à l'origine de protéines permettant à la bactérie de survivre

aux antibiotiques. On ne connaît pas le rôle de tous les plasmides (de ceux dits « cryptiques. ») Certains plasmides peuvent s'échanger entre bactéries donneuse et receveuse, on dit qu'ils sont « conjugatifs. » Exemple : Plasmide conjugatif : Plasmide F de E. coli (90 kb.) Il est transmis au travers d'un pilus formant un pont cytoplasmique entre les deux bactéries.
De nombreuses activités biologiques peuvent être conférées à la bactérie hôte, elles concernent trois domaines principaux :

- Résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds,
- Pouvoir pathogène,
- Métabolisme.

II) Les Eucaryotes

Le régime des eucaryotes comprend des organismes unicellulaires qu'on appelle protistes et les champignons, les végétaux et les animaux (pluricellulaires.) Les cellules eucaryotes, par définition, et contrairement aux procaryotes, possèdent un noyau (*caryon* en grec.)
Dans ce noyau se trouve la majeure partie de l'ADN cellulaire qui est séparé du reste du contenu cellulaire. Dans le cytoplasme se trouve de nombreux organites : mitochondries (organites presque universels à toutes les cellules eucaryotes) étant le siège de la respiration ; les chloroplastes (organites spécifiques des cellules végétales) qui sont le siège de la photosynthèse. Ces deux organites auraient une origine symbiotique (figure I1, I2) appuyée par plusieurs signes : la forme, leur taille, leur mode de reproduction et également la présence d'ADN.
On peut proposer une classification du monde vivant en six règnes :
eubactéries - archéobactéries - protistes - végétaux - animaux - champignons

A) Les eucaryotes unicellulaires : les protistes

Les premiers protistes sont de 1,5 milliards d'années. On les caractérise par une organisation complexe, liée à de nombreux organites intracellulaires spécialisés. Ils ont évolué de diverses façons et on peut le voir au niveau de la variété de formes et de comportements qui est présente :
- Variété de formes : figure I9
- Variété de comportement : certains sont photosynthétiques, d'autres carnivores ; certains sont mobiles, et d'autres sédentaires. Ils peuvent être aussi complexes que de nombreux organismes pluricellulaires et cela est particulièrement vrai pour le groupe des protistes appelés « protozoaires. »

2) Les protozoaires

C'est un groupe très hétérogène : il est fait d'organismes majoritairement mobiles, leurs formes sont très diverses et la taille peut varier de 1 à 2000mm. Ils ont des vacuoles spécialisées (en plus de tous les organites habituels) dans l'absorption de nourriture, dans le transport de cette nourriture vers des vacuoles digestives. Chez les protozoaires d'eau douce, on trouve des vacuoles contractiles qui servent à éliminer l'eau qui entre par osmose dans la cellule. La reproduction est en général asexuée par fission lunaire. Certains, à un moment donné, peuvent avoir une

reproduction sexuée par conjugaison. On distingue quatre classes principales, en fonction du mode de locomotion et de reproduction. (tableau I3)

a) Les flagellés (mastigaphores)

Ils sont caractérisés par la présence de flagelles qui servent à la locomotion et, pour certains, en plus, d'une membrane ondulante. Certains vivent en symbiose : le Trichonympha collaris par exemple (dans l'intestin du termite et aide à la digestion du bois.) Beaucoup d'espèces sont pathogènes pour l'homme. Exemple : le Trypanosoma gambiense (figure I10.) Il est responsable de la maladie du sommeil transmis par la mouche Tsé-tsé.

b) Les amibes (sarcodines – rhizopodes)

Ils sont caractérisés par la faculté à fabriquer des pseudopodes qui servent aux déplacements et à la nourriture. Certaines espèces sont pathogènes et parasites pour l'homme. Exemple : L'Entamœba histolytica.

c) Les ciliés

Ils sont caractérisés par des cils servant de moyen de locomotion et servant pour la nourriture. Ils jouent un rôle important dans les communautés biotiques car ce sont de grands consommateurs d'algues microscopiques, et de bactéries. Ils sont eux-mêmes consommés par d'autres. Ils peuvent avoir deux noyaux.
Exemple : Le Paramecium caridatum (figure I11) ; dimension = 150 mm.
Le Didinium : protozoaire carnivore (figure I12.)

d) Les sporozoaires

Ils sont immobiles à forme adulte. Ils sont toujours parasites. Les cycles évolutifs sont complexes, ils se déroulent en plusieurs étapes chez des hôtes différents et passant par des formes sporulées.
Exemple : Le Plasmodium, le plus connu en pathogénisité humaine. Le paludisme est une maladie très mortelle pour l'homme transmis par l'anophèle femelle parasitée par les sporozoaires.

e) Autres protistes

(Figure I1) Les algues unicellulaires ou « Diatomées » : elles représentent la moyenne partie des phytoplanctons des eaux douces ou marines. Les champignons unicellulaires : les levures. Etc.…

3) Les levures

L'homme utilise les levures depuis des siècles dans la fabrication des boissons tel le vin ou la bière. Aujourd'hui, elles sont largement utilisées en biotechnologie. Elles sont capables de synthétiser des vitamines et des enzymes. Elles sont intéressantes dans la production industrielle car elles sont robustes, peu exigeantes et on peut facilement les séparer de leur milieu de culture. Ce sont des organismes assez disparates largement distribués dans le sol ou dans l'air. Leurs formes cellulaires

sont variables en fonction des espèces et du milieu mais les cellules typiques sont des cellules ovalaires. La diversité est aussi au niveau de la taille :
Largueur = 1 à 5mm,
Longueur = 5 à 50mm.

Les levures sont toujours des cellules immobiles et, du point de vue de la reproduction, elles peuvent se reproduire par scission binaire, par sporulation ou par bourgeonnement (figure I13.) Le bourgeonnement est le mode de reproduction le plus courant. Exemple : Saccharomyces cerevisiae : levure bourgeonnante (figure I13) ou : Schizosaccharomyces pombe : levure fissipare.
Cycle cellulaire : Ces deux types de levures ont eu des voies d'évolution qui ont divergé très tôt dans le temps (centaines millions d'années.) Cependant, elles présentent des cycles cellulaires similaires. Leurs proliférations peuvent être à l'état haploïde ou diploïde. La proportion du cycle biologique passé dans un état ou dans l'autre varie selon les espèces et l'environnement.

B) Les eucaryotes pluricellulaires

Les cellules végétales dépourvues de centrioles possèdent des constituants spécifiques :

- Une paroi, elle est constituée en grande partie de la cellulose (polymère du glucose.) Cette paroi est une couche poreuse qui recouvre entièrement la membrane plasmique qui donne à la cellule sa forme et sa rigidité ;

- Les vacuoles, même si des cellules animales ou les protistes ont des vacuoles, cet organite est spécifique aux cellules végétales. Elles occupent un grand espace dans le cytoplasme (à 80%) et contiennent le liquide des vacuoles, on parle de « sève cellulaire » c'est-à-dire une sorte de réservoir avec des substances en fortes concentrations ;

- Les chloroplastes, siège de la photosynthèse, et par conséquent absents chez les animaux et les champignons. Animaux : Pour former un organisme pluricellulaire, les cellules doivent être d'une façon ou d'une autre reliées entre elles. Chez les animaux, les cellules sont reliées par un réseau relativement lâche de grosses molécules appelées « matrice extracellulaire » et par des adhérences entre leur membrane plasmique. Très souvent, elles sont reliées par des attaches latérales, leur permettant de former des feuillets pluricellulaires ou « épithélia. » Vertébrés : Dans le cas particulier des vertébrés, on distingue plus de 200 types cellulaires différents. Très certainement, ils contiennent des cellules aux différences plus subtiles. Ceci montre la polyvalence des cellules eucaryotes au sein d'un même organisme. Ces cellules sont organisées en ensembles coopératifs appelées « tissus » qui eux-même s'organisent en différentes combinaisons pour former les organes.
Chez les vertébrés, les principaux tissus sont : les muscles, le sang, les nerfs, les tissus lymphoïdes, les tissus conjonctifs, les tissus épithéliaux. Les tissus lymphoïdes sont la moelle, les ganglions, tissus où se trouvent les lymphocytes. Les tissus conjonctifs sont les tissus qui comblent les espaces entre d'autres tissus et un organe. Les cellules des tissus sont habituellement en contact avec la matrice extracellulaire, cette matrice assure la cohésion du tissu.

Chez les animaux, c'est une trame structurée dans laquelle les cellules peuvent migrer et interagir entre elles. Organisation des cellules épithéliales : Dans le cas de ce tissu, les cellules sont très étroitement associées, matrice extracellulaire est peu abondante. C'est une fine couche sous jacente aux feuillets formés par les cellules. On appelle la matrice extracellulaire la « lame basale. »

A quelques exceptions près, toutes les frontières internes et externes de notre organisme sont bordés par des tissus épithéliaux. Les divers types d'épithélium possèdent une structure spécialisée assurant la coordination, l'intégrité et l'environnement fonctionnelle de tous les autres tissus. Exemple : Épithélium qui borde l'intestin. Les macromolécules absorbées lors de l'alimentation sont dégradées en oligomères (plus petites molécules) dans la lumière de l'intestin, les protéines en peptides, les polysaccharides en oligosaccharides. Les cellules de l'épithélium qui borde la lumière de l'intestin ont deux fonctions : absorber les molécules alimentaires et permettre leur transport jusque dans le sang. Elles sont particulièrement adaptées à cela du fait de la présence de nombreuses microvillosités qui augmentent considérablement la surface membranaire et donc la vitesse d'absorption des aliments. A la surface de ces microvillosités se trouvent des enzymes de type glucosidases et peptidases qui terminent la dégradation des molécules en molécules simples de type glucide ou acide aminé. Sous cette forme, les molécules peuvent être transportées au travers de la membrane apicale, elle diffuse dans la cellule et traverse la membrane basolatérale. On peut voir par microscopie électronique le duvet formé par les enzymes à la surface des microvillosités, il est appelé « glycocalyse. »

Jonctions cellulaires : Grâce à des jonctions cellulaires spécialisées, très abondantes, les feuillets des cellules épithéliales forment de véritables barrages à la circulation d'eau, des molécules, des cellules, d'un compartiment corporel à l'autre. Ces jonctions existent entre deux cellules et entre une cellule et la matrice extracellulaire. On distingue trois groupes fonctionnels de jonction :
- Jonctions dites imperméables,
- Jonctions dites d'ancrage,
- Jonctions dites communicantes.

Végétaux : Les cellules végétales sont entourées d'une paroi en cellulose, de ce fait, elles n'ont pas besoin de jonctions d'ancrage. En revanche, on va trouver des jonctions communicantes, on les appelle « plasmodesmes » (figure I17.) Elles sont des canaux cytoplasmiques (diamètre 20 à 40 nm) qui relient les cytoplasmes de deux cellules voisines.

III) Les virus

Ce sont des parasites obligatoires qui ne peuvent se développer et se reproduire que dans les cellules qu'ils infectent en utilisant les enzymes de la cellule. Leur taille est minuscule : plus petite qu'une bactérie classique, c'est-à-dire = 5 nm à quelques 100 nm. Ce ne sont pas des cellules mais plutôt des éléments génétiques mobiles à la limite entre le moléculaire et le vivant. Le génome du virus permet à lui seul la multiplication virale, c'est-à-dire qu'il suffira, dans le cas de certaines infections, au génome viral de rentrer seul dans la cellule. Une particule virale infectieuse ou

« virion » est constituée d'une molécule d'ADN ou d'ARN, d'une gaine protéique et plus ou moins d'une enveloppe lipidique.

A) La structure des virus

(figure I18)

1) La nucléocapside

On appelle « nucléocapside », l'ensemble formé par le génome viral et la capside qui l'entoure.

a) Génome viral

Il peut être sous deux formes :
- Sous forme d'ADN ou
- sous forme d'ARN.

Forme ADN : Il est généralement bicaténaire et linéaire. Dans certains cas, cet ADN peut se circulariser après son entrée dans la cellule. La circularisation peut en effet être un préalable nécessaire à l'intégration du génome viral dans le chromosome de l'autre. Cet ADN code 3 à 10 protéines minimums nécessaires pour le virus. Dans le cas de gros virus : 100 à 200 protéines.
Forme d'ARN : Il est généralement monocaténaire et linéaire. Ce génome viral peut être associé à des protéines (virales) et, dans ce cas, on peut parler de nucléoïdes.

b) Capside

C'est une coque de nature protéique qui entoure et protège le génome. Elle est composée d'une ou de plusieurs protéines particulières au virus. La nucléocapside peut présenter deux types de symétrie architecturale : la symétrie cubique et la symétrie hélicoïdale. Les virus à symétrie cubique : La capsule est icosaédrique (20 faces.) Elle contient l'acide nucléique entouré sur lui-même. Elle est formée d'un certain nombre de sous-unités appelées « capsomères » qui sont eux-même composées de plusieurs constituant d'unités de structure. Exemple de virus à symétrie cubique : adénovirus, herpès, bactériophages (T2.) On appelle « bactériophages » ou « phages » les virus qui infectent les bactéries. Les virus à symétrie hélicoïdale : exemple : virus de la mosaïque du tabac, ce sont les premiers agents infectieux capables de traverser des filtres retenant les bactéries, à avoir été mis en évidence par Dmitri Ivanovski (biologiste russe) en 1892. Ce sont des virus à nucléocapsides nues (sans enveloppe.) La capside a la forme d'un bâtonnet cylindrique (longueur 250 nm, diamètre = 18 nm.) Cette capside entoure une molécule d'ADN de 3.106Da. La capside est constituée par l'assemblage de capsomères formant un ruban continu enroulé en hélice serrée. Chaque capsomère comporte une encoche sur les faces supérieure et inférieure où se loge le filament d'ARN. Ce dernier s'entoure donc en hélice avec le même axe que la capside (capsomère) (figure I19.) Exemple 2 : grippe : c'est un virus enveloppé. Son enveloppe a une forme de sphère de diamètre 110nm, elle est parsemée de projection qui correspondent à des protéines virales. On dit qu'il a un aspect hérissé. La capside est également cylindrique, de longueur 800nm et diamètre 9nm. Par

rapport à l'exemple précédent, elle n'est pas rigide mais souple et bobinée (ou enroulée en hélice.) Cette capside contient la molécule d'ARN de masse molaire 2.106 Da en neuf fragments.

2) L'enveloppe

Chez certains virus, surtout à symétrie hélicoïdale, la nucléocapside s'entoure d'une enveloppe composée à la fois de lipides et de protéines.
Lipides : Ils sont semblables à ceux de la membrane plasmique de la cellule infectée par le virus. Ceci du fait que beaucoup de virus acquièrent leurs enveloppes par le processus de bourgeonnement (figure I20.)
Protéines : Elles sont propres aux virus, elles ont des propriétés antigéniques importantes, elles jouent un rôle dans la reconnaissance cellulaire, la maturation et la libération des particules virales.

B) Spectres d'hôtes des virus

Les spectres d'hôtes sont en général étroit et on s'en sert dans la classification des virus : - Virus bactériophages – phages - Virus animaux : infectent que les animaux. - Virus végétaux : infectent que les plantes. Dans certains cas, les spectres d'hôte sont plus larges : Virus infectant les animaux et les végétaux.

C) Matériel génétique des virus

Les tableaux I4 et I5 donnent les principaux virus humain à ADN et ARN
Famille : ……..viridae
Genre : ……virus
Espèces : virus ……..

D) Croissance et multiplication

Le cycle infectieux se déroule en plusieurs étapes :

- Étape d'absorption : Au cours de cette étape, le virus reconnaît sa cellule cible (= hôte) grâce à une protéine de surface qui interagit avec une protéine de la cellule cible. On appelle ces dernières les « récepteurs. » L'interaction entre une protéine virale et un récepteur de la cellule détermine la spécificité de l'hôte.
- Étape de pénétration du génome viral : Quelquefois, la capside est abandonnée. Si le génome est associé à des protéines, elle reste associée. Dans le cas de virus eucaryotes à ADN, la molécule d'ADN va jusque dans le noyau de la cellule infectée.
- Étape de réplication du génome viral + synthèse des protéines virales. Pour cela, le virus détourne la machinerie cellulaire de synthèse des acides nucléiques à son profit. On distingue trois catégories de protéines virales : des enzymes propres à la réplication virale, des facteurs inhibiteurs du métabolisme cellulaire, des protéines nécessaires à la construction de nouveaux virions.
- Étape de libération : Lorsqu'un certain nombre de virus (= virions) s'est formé, la majorité des bactéries et certaines cellules animales ou végétales éclatent ou se lysent en libérant d'un coup les virions. Pour beaucoup de cellules animales et végétales, la libération des virus se fait au fur et à mesure de la désintégration

de la cellule. Les virus enveloppés peuvent quitter la cellule par bourgeonnement.

Ces quatre étapes correspondent à un cycle lytique (bilan : mort de la cellule et libération de nouveaux virions.) Après les deux premières étapes, le génome viral peut s'intégrer dans le chromosome de l'autre. Parmi les virus dotés de cette propriété : deux exemples : les phages tempérés ou phages lysogènes et les virus d'eucaryotes appelés « rétrovirus. » Ce sont des virus à ARN, leur génome est transformé en ADN pour qu'ils soient ajoutés à l'ADN cellulaire. On appelle alors ce cycle, un cycle « lysogène. »

Exemple : infection par le phage l de E. coli (figure I21.) Ce phage est tempéré, il va pouvoir effectuer un cycle lytique → production de nouveau phages et lyse de la cellule, c'est le cycle le plus fréquent. Ou alors un cycle lysogène s'intègre au chromosome bactérien, on appellera cela un « provirus », et dans ce cas, on parle de « prophage. » Si une bactérie lysogène est soumise à un événement inducteur menaçant sa vie, le provirus quitte le chromosome bactérien et termine un cycle lytique de telle façon qu'il ne meure pas en même temps que la bactérie. Afin de démonter que, lors de l'infection par des phages, la capside reste à l'extérieur des phages, des phages lytiques ont été utilisés :

Expérience d'Alfred Hershey et Martha Chase en 1952 (figure I22.)
Première étape : virus lytique + bactéries.
Virion avec une capside marquée 35S (Milieu : 35S et 32P) et de l'ADN marqué 32P isotope radioactif. Les protéines vont être marquées par le 35S. L'ADN va être marqué par le 32P. Les nouveaux virions sont ajoutés à des nouvelles bactéries en milieu non radioactif. L'infection est interrompue de façon à isoler les bactéries avant qu'elle ne se lysent. On obtient un milieu marqué au 35S et des bactéries marquées au 32P.
La capside n'est pas rentrée dans la bactérie, seul l'ADN pénètre. Infection par un virus ARN chez les eucaryotes : Voir figure I23.
Rappel sur l'ADN : réplication ADN.
2 ADN dans le noyau.
Dans Le noyau, transcription n ARN.
Dans le cytoplasme, traduction « phase liquide. »
A la surface du réticulum endoplasmique, protéines solubles, protéines transmembranaires.
Cas des rétrovirus : (figure I 24) On les appelle ainsi parce qu'ils inversent le processus normal au cours duquel l'ADN est transcrit en ARN. Ceci grâce à un enzyme que l'on appelle la « transcriptase inverse. » C'est un ADN polymérase, ARN ou ADN dépendante. Il est empaqueté dans le nucléocapside du rétrovirus à chaque réplication virale.

Schéma bilan : infection virale « en général »
Virus eucaryote :
Virus à ADN - ADNviral entre dans le noyau : à (réplication) n ADN à (transcription) n ARN entre dans le cytoplasme, (traduction), n protéines virales - L'encapsidation se fait dans le noyau.
Virus à ARN - l'ARN viral est répliqué en n molécules d'ARN dans le cytoplasme qui sont traduites en protéines virales. L'encapsidation se fait dans le cytoplasme. La

réplication se fait par des enzymes virales du type ARN polymérase ARN dépendant, on leur donne le nom de « réplicases. »
Cas des rétrovirus : ce sont des virus dont la molécule d'ARN est d'abord transcrite en une molécule d'ADN dans le cytoplasme. Puis en molécule d'ADN double brin. Puis, dans le noyau, le provirus intègre l'ADN de la cellule avec l'intégrase puis il y a transcription en ARN dans le noyau puis traduction en n protéines dans le cytoplasme. La transcription se fait par une enzyme virale : la transcriptase inverse.
Bactériophages : tout dans le cytoplasme.

★ CYCLE CELLULAIRE ET PROLIFERATION

Les cellules se reproduisent en dupliquant leurs composants et en se divisant en deux. Ce cycle de division cellulaire est le moyen de propagation des êtres vivants. Dans le cas d'organismes unicellulaires, un cycle suffit pour donner naissance à un nouvel individu ; chez les organismes pluricellulaires, plusieurs divisions sont nécessaires pour un nouvel individu. Et de très nombreuses divisions sont nécessaires au maintien d'un individu adulte.
Exemple chez l'homme adulte : des millions de nouvelles cellules sont fabriquées chaque seconde. Les cycles de divisions cellulaires varient dans les détails (d'une cellule à l'autre), mais certaines exigences sont universelles. Pour donner deux cellules filles identiques, l'ADN doit être correctement répliqué et les chromosomes fils doivent ségréguer (=se séparer) dans deux cellules différentes. La plupart des cellules doublent leur masse et dupliquent tous leurs organites.
Par conséquent, il existe un processus cytoplasmique et nucléaire coordonné. La coordination est possible grâce à un système de contrôle du cycle cellulaire.

I) Les phases de cycle cellulaire

Deux phases principales : l'interphase, elle précède et prépare la phase M (deuxième phase), elle représente 90 à 95 % de la durée du cycle. La phase M, elle, est la phase de division proprement dite. C'est-à-dire la division nucléaire au caryodiérèse - ou mitose, d'où le « M » de son nom. Elle est suivie de la division cytoplasmique : la cytodiérèse.

L'interphase, en microscopie, apparaît comme un interlude sans autres événements que la lente croissance de la cellule.
En réalité, c'est une phase au cours de laquelle de nombreux travaux préparatoires ont lieu, et dans un ordre très précis. En particulier, c'est pendant l'interphase que l'ADN est répliqué, plus exactement pendant la phase S (pour « synthèse ») de l'interphase. Cette phase est précédée et suivie des phases G_1 et G_2 (G pour « gap » = fossé) ; ces phases représentent des temps nécessaires à la naissance de la cellule. Ce sont également des phases de sécurité et de contrôle.
Pendant la phase G_1, la cellule contrôle son environnement et, à un moment donné, elle prend la décision de poursuivre dans le cycle, c'est-à-dire de répliquer son ADN. Pendant la phase G_2, la cellule contrôle la réplication de son ADN, si elle est correcte, elle termine et poursuit le cycle de division cellulaire. (Figure III6)

Les phases G_1, S, G_2 et M sont les sous-divisions classiques du cycle cellulaire standard. (Figure III1, III2)

A) Courbe de croissance et les différentes phases

Le cycle cellulaire peut être suivi par la réalisation de culture in vitro et par le tracé d'une courbe de croissance. On peut dire que les cellules se multiplient par division binaire $2 \rightarrow 2^n$.
Si, au temps t_0, on a X_0 cellules, au temps t, on aura $X = X_0 . 2^n$

n = nombre de divisions ou nombre de cycles.

$X = X_0 . 2^n$

$\text{Log } X = \log (X_0 \,.\, 2^n)$
$\text{Log } X = \log X_0 + \log 2^n$
$\text{Log } X = \log X_0 + n \log 2$

$$n = \frac{(\log X - \log X_0)}{\log 2}$$

t_g = temps de génération ou durée du cycle

$$t_g = \frac{(t - t_0)}{n}$$

Taux de croissance : τ

$$\tau = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt}$$

C'est la dérivé de log X en fonction du temps, c'est-à-dire qu'il représente la pente en un point de la courbe log X en fonction du temps, c'est ainsi que l'on trace en général une courbe de croissance.

Figure III3.

Pour étudier la croissance d'une espèce cellulaire, on ensemence une culture pure de la cellule choisie dans un milieu convenable et dans des conditions favorables.
On suit en fonction du temps l'évolution de la concentration cellulaire ou de la biomasse (X) et on trace la courbe de croissance.

La courbe de croissance obtenue présente plusieurs phases, le paramètre qui les défini le mieux est ¤ (= la vitesse de division.)

Le nom des phases : (voir figure III3)

① phase de latence, ¤ = 0
② phase d'accélération, ¤ augmente
③ phase de croissance exponentielle, $¤_{max}$
④ phase de ralentissement, ¤ diminue
⑤ phase stationnaire, ¤ = 0
⑥ phase de Déclin, ¤ < 0

↳ ① Phase de latence :
C'est une phase qui vient du fait qu'après l'ensemencement, la croissance cellulaire ne commence pas toujours immédiatement. Au cours de cette phase, $X = X_0$ = constante. La durée de cette phase dépend de l'âge des cellules et de la composition du milieu de culture, entre autres.

Par rapport à l'âge : des cellules issues d'un milieu de culture jeune et ensemencées dans un milieu neuf donnent une phase de latence extrêmement courte. Des cellules issues d'une culture vieille, c'est-à-dire en phase stationnaire ou de déclin, vont présenter une phase de latence importante du à l'environnement. En effet, dans

l'inoculum (cellule prélevée pour la culture) se trouve de nombreuses cellules non viables ou mortes.

Par rapport au milieu : des cellules prélevées en phase exponentielle de croissance et placées dans un milieu neuf de composition identique ne donne pas de phase de latence. Si les cellules sont placées dans un milieu de composition différente, la durée de la phase de latence correspond au temps nécessaire à la cellule pour synthétiser les enzymes nécessaires à l'utilisation de nouveau substrat.

La phase de latence peut être contrôlée en durée en fonction des conditions de culture choisies.

↳ ⑤ Phase (maximale) stationnaire :
Le milieu devient moins favorable, le nombre de cellules viables est constant. L'unité est CFU : Unité Formant des Colonies ou CFC : Cellules Formant des Colonies.

Cela peut traduire un équilibre entre le nombre de cellules issues de la multiplication d'une autre cellule et le nombre de cellules qui meurent. Cela peut également traduire une persistance des cellules sans aucun développement.

On dit la phase maximale « stationnaire » parce qu'à ce moment là, X est max.

Cette phase survient théoriquement lorsqu'une substance nutritive indispensable est épuisée ou alors lorsque s'accumulent des substances toxiques dans le milieu. (Notamment des substances qui vont diminuer le pH.)

↳ ⑥ Phase de Déclin :
C'est une phase de mortalité cellulaire, les cellules meurent et disparaissent par autolyse. Remarque : le taux de mortalité peut être constant et cette phase sera alors une droite.

↳ ③ Phase de croissance exponentielle :
C'est la phase au cours de laquelle les cellules se divisent le plus vite (¤ max.) Si la croissance est exponentielle, log X à ce niveau est une droite. La pente de cette droite est donc ¤ max. Si on prend deux points (t_1, X_1) et (t_2, X_2) donc log X_2 - log X_1 = $¤_{max}$ (t_2 - t_1)

Cas où $X_2 = 2X_1$, $t_2 - t_1 = t_g$ = temps de génération

Log 2 X_1 - log X_1 = $¤_{max}\ t_{g\ (min)}$

$$\log\frac{2X_1}{X_1} = ¤_{max}\ t_{g\ (min)}$$

log 2 = $¤_{max}\ t_{g\ (min)}$

$$t_{g\ (min)} = \frac{\log 2}{\mu_{max}}$$

Ce temps de génération diffère d'une cellule à l'autre.
Exemple : procaryotes :
Chez E. coli : t_g ~ 20 min

M. tuberculosis : t_g ~ 20h
M. leprae : t_g > 300h

Exemple : eucaryotes : voir la suite.

B) Durée du cycle cellulaire et des différentes phases chez les eucaryotes

Les cellules eucaryotes peuvent croîtrent et se diviser à des vitesses très différentes. Les cycles les plus courts, (plus courts même que ceux de beaucoup de bactéries) sont les cycles embryonnaires précoces.

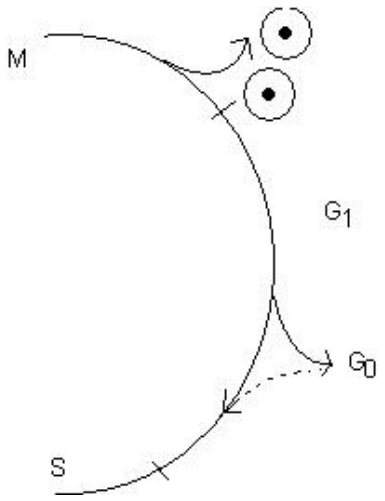
→ Les embryons précoces :
Ces cycles interviennent directement après la fécondation d'une cellule œuf chez les animaux. Cette cellule se divise rapidement en cellules plus petites, donc pas de croissance donc, les phases G1 et G2 du cycle sont extrêmement réduites. La durée du cycle est de 8 à 60 min et partagée pour moitié entre les phases S et M.

(Figure III 4)

→ Levures :
La levure typique a un cycle d'une durée ≈ 120 minutes.

→ Cellules animales et végétales :
La plupart des cellules animales et végétales en croissance se divisent toutes les 10 à 30h. Certaines ne se divisent pas du tout, c'est le cas des cellules nerveuses ou des cellules des muscles striés (muscle cardiaque, etc.) D'autres se divisent par commande, c'est le cas des fibroblastes qui se multiplient lorsqu'il y a une blessure.

▶ La diversité dans la longueur des cycles :
Même si la durée de toutes les phases peut varier d'une cellule à une autre, c'est la variation de durée de la phase G1 qui est à l'origine de la grande diversité. Effectivement, à partir de cette phase, les cellules peuvent quitter le cycle pour rentrer dans un état quiescent (= de repos) G0 avant de reprendre ou non le cycle cellulaire.



▶ Durée des phases :

Pour déterminer la durée des phases, il y a deux types d'analyse : analyse par microscopie et analyse par autoradiographie (c'est une technique par laquelle un objet radioactif produit une image de lui-même sur un film photographique.)

→ Cellules en phase S :
Pour estimer la durée de la phase S, une culture cellulaire peut être placée dans un milieu contenant de la thymidine marquée et ceci pendant un court instant.
¤ La thymidine (T) entre spécifiquement dans la composition de l'ADN.
¤ Le marquage de la T peut être radioactif, c'est la thymidine tristiée : ^{3}H-thymidine ou encore chimique : BrdU c'est-à-dire BromoDesoxyUridine, c'est un analogue artificiel de la Thymidine.

Remarque : les cellules en phase S répliquent leur ADN.

Seules les cellules en phase S en cours de réplication de leur ADN vont utiliser ces molécules marquées. Grâce au marquage, elles peuvent être comptées, avec ^{3}H-T, le comptage se fait par autoradiographie et avec la BrdU, on utilise des anticorps anti-BrdU.

Habituellement, dans une population de cellules en croissance qui prolifèrent de façon non synchrone, à peu près 30% des cellules sont en phase S à chaque instant et peuvent donc être comptées à la suite d'un court marquage.

Ce pourcentage est appelé « index de marquage », il permet de déterminer la durée de la phase S.

Le pourcentage de cellules observé à un stade donné représente le pourcentage de la durée de ce stade par rapport à la durée du cycle cellulaire.

→ Cellule en phase M :
En microscopie, on peut déterminer le pourcentage de cellules en phase M : on obtient l'index mitotique et, par la même règle, on déduit la durée de la phase M.

▶ Stade du cycle :
On appelle cette technique la « cytofluorimètrie » ou « technique de cytomètre de flux. » L'appareil est appelé « cytofluorimètre FACS » (Trieur de Cellule Activée par Fluorescence.) (Figure III 5)
On utilise cette technique avec un composé fluorescent qui permettra de repérer le doublement de la quantité d'ADN.

▶ Croissance :
La croissance est un processus régulier continu interrompu seulement brièvement par la division de la cellule en deux. Les protéines d'une cellule sont synthétisées de façon continue tout au long du cycle. L'ARN fait de même, sauf pendant la phase M où la condensation des chromosomes est trop importante pour sa synthèse.

II) La culture cellulaire

A) Culture des procaryotes

On distingue deux grands groupes de bactéries sur la base de leurs exigences nutritionnelles :
- autotrophes : celles qui utilisent le CO_2 comme source de carbone ;
- hétérotrophes : celles qui exigent des composés organiques comme source de carbone.

Les milieux de cultures :
On les met dans des récipients stériles, ils sont de deux types :
- liquides (erlenmeyer, etc.)
¦ Les bactéries peuvent former un trouble du milieu, cas où elles se développent en suspension.
¦ Il peut se former un dépôt, cas où elles se déposent au fond.
¦ Il peut se former un voile, cas d'un développement en surface.
- Solides (boite de Pétri) :
¦ Il peut se former une nappe confluente, cas où l'ensemencement est important, c'est-à-dire lorsque les bactéries, en se multipliant, recouvrent entièrement toute la surface.
¦ Il peut se former des colonies, cas où l'ensemencement est peu important, lorsque les bactéries sont isolées.
L'aspect de ces colonies dépend du type des bactéries qui leur donne naissance.

Composition des milieux de culture :
Ils contiennent les substances nutritives indispensables à la croissance bactérienne :

Milieux synthétiques ou minimaux : ce sont des milieux de composition parfaitement définie, utilisés pour des cultures particulières. (Voir tableau III 2)

Milieux empiriques ou riches : ce sont des milieux de composition non définie, utilisés pour des cultures de routine. Exemple : bouillon de viande (glucides, composés azotés, sels minéraux, H_2O) + peptone (= ensemble de produits d'hydrolisation de protéines) + NaCl

Milieux d'enrichissement ou sélectifs : milieux qui permettent de sélectionner la croissance d'une espèce bactérienne parmi d'autres. Exemple : milieu où l'on ajoute un antibiotique qui va favoriser sélectivement les bactéries qui ont un plasmide de résistance.

B) Culture des eucaryotes

Elle a commencé en 1907, avec la vérification d'une hypothèse connue sous le nom de « Doctrine neuronale » (sujet de controverse chez les neurobiologistes.)
Selon cette hypothèse, les fibres nerveuses sont des excroissances de cellules nerveuses et non le produit de la fusion de plusieurs cellules.
Pour vérifier cette hypothèse, des fragments de moelle épinière ont été mis en culture dans une chambre chaude et humide et observés au microscope régulièrement, les chercheurs ont pu observer de longs et fins prolongements émis par une cellule nerveuse. La doctrine neuronale était prouvée et le premier pas de la culture cellulaire était franchie…

Les premières cultures étaient des cultures de fragments tissulaires.
Aujourd'hui, on fait des cultures à partir de cellules en suspension.

Protocole :
Pour obtenir des cellules en suspension à partir du tissu, il faut rompre la membrane extracellulaire et donc les jonctions intercellulaires. Pour cela, on ajoute des enzymes protéolytiques (⇨ rupture de la matrice extracellulaire, dégradation des macromolécules) + des agents chélatants (pour les jonctions, ils vont chélater les jonctions d'ancrage faits de cadhérine se liant à des Ca^{2+} dépendants.) Après traitement, on fait subir une action mécanique ménagée et on obtient des cellules isolées.

Milieux de culture :
Contrairement aux bactéries, les cellules eucaryotes ne se sont pas adaptées à une culture en suspension. Les récipients utilisés ont une surface plane sur laquelle les cellules se divisent (Voir tableau.) Les cultures réalisées à partir de cellules directement issues d'un tissu sont appelées « cultures primaires. » A partir de cultures primaires, on les remet en culture et on obtient des cultures secondaires. Les cellules de ces cultures expriment souvent des propriétés différenciées propres à leur origine. Exemple : des cellules épithéliales vont former des feuillets de grandes dimensions ayant beaucoup de propriétés des feuillets d'origine.

Composition :
Les milieux avec sérum : milieux de composition chimique non définie parfaitement (voir tableau III 3.) Ce sont des solutions salines tamponnées, contenant du glucose, des acides aminés, des vitamines ; le sérum apporte des macromolécules comme les facteurs de croissance. Des antibiotiques peuvent être ajoutés à ces milieux pour éviter les contaminations bactériennes. Ce type de milieu ne peut pas être utilisé dans le cadre d'études particulières sur l'effet de certaines macromolécules sur la croissance.

Les milieux sans sérum : de composition chimique connue (même petites molécules auxquelles on ajoute des protéines nécessaires à la croissance comme les facteurs de croissance.) Le rôle et l'importance de ces facteurs de croissance de la stimulation de la prolifération sont illustrés dans les expériences (voir figure III7 et III8.)

Facteur de croissance :
Figure III 7 : « inhibition de contact » ⇨ sécession de prolifération.
Suite à cette expérience, on pourrait conclure que c'est par inhibition de contact que les cellules cessent de proliférer. Mais cette expression est trompeuse car la densité de la population cellulaire à laquelle la prolifération cesse dans une monocouche confluente dépend de la concentration en facteurs de croissance, elle augmente avec cette concentration.
(Figure III8 : Manque de facteurs de croissance ⇨ responsable de la sécession de prolifération.)

Vocabulaire :
La plupart des cellules des vertébrés meurent après un nombre fini de division en culture. Exemple : des cellules de la peau humaine se divisent 50 à 100 fois avant de

mourir (figure III9), on appelle ces cellules issues d'une culture unique « les souches cellulaires. » La particularité d'une souche cellulaire est sa limite de durée de vie. Cela peut refléter la durée de vie limitée dont elles sont issues, c'est ce que l'on appelle la « sénescence cellulaire. »

Des cellules d'une souche peuvent subir une mutation conduisant à leur immortalité, on obtient ainsi une lignée cellulaire caractérisée par l'immortalité cellulaire. On parle de transformation malgré, in vivo, lorsqu'il n'y a plus de contrôle du cycle cellulaire, il y a formation de tumeur.

Les cellules d'une lignée se ressemblent fortement mais pour obtenir des cellules identiques, on effectue un clonage cellulaire, c'est-à-dire qu'on permet à une seule cellule de se développer, les cellules filles constituent des classes (équivalent aux colonies des bactéries.)

★ LE NOYAU

La majeure partie de l'ADN d'une cellule eucaryote est contenue dans le noyau qui occupe environ 10% du volume cellulaire. Le noyau est délimité par une enveloppe nucléaire formée de deux membranes interrompues au niveau des pores nucléaires. Au travers de ces pores, des constituants entrent et sortent du noyau. L'enveloppe nucléaire est emprisonnée entre deux réseaux de filaments intermédiaires, l'un fin et organisé côté interne, l'autre étendu et moins organisé. L'enveloppe nucléaire est constituée avec les membranes du réticulum endoplasmique. (figure IVI)

I) Structure

A) L'enveloppe nucléaire

1) La membrane nucléaire externe

Elle ressemble à la membrane du réticulum endoplasmique rugueux, elle est en effet parsemé de ribosomes engagés dans la synthèse protéique. Ces protéines peuvent diffuser dans la membrane du réticulum endoplasmique. L'espace périnucléaire, c'est-à-dire entre les deux membranes, est continu avec la lumière du réticulum endoplasmique. Dans la plupart des cellules animales, un réseau entoure cette membrane et s'étend jusqu'à la périphérie cellulaire ou elles interagissent avec la membrane plasmique.

2) La membrane nucléaire interne

Elle contient des protéines spécifiques qui agissent comme sites de fixation de la lamina nucléaire (= fine couche de filaments organisés.)

La lamina nucléaire :
Elle sert d'intermédiaire entre la membrane interne et la chromatine.
Son épaisseur est 10 - 20 nm.
Si on traite cette lamina par des détergents doux, elle se présente comme un réseau à mailles carrées en feuillets bidimensionnels.
Les trois principales protéines périphériques de la lamina sont les lamines A, B et C :
- La lamine B joue un rôle particulier de fixation de la lamina à la membrane.
- Les lamines A et C s'attachent à la lamine B et servent d'intermédiaires avec la chromatine.

Durant l'interphase, ces trois lamines sont rassemblées à la surface interne de la membrane. La lamina sert à donner une configuration et une stabilité à l'enveloppe nucléaire.

Au cours de la mitose :
Au début de la mitose, le noyau disparaît, la lamina se dépolarise en partie, du fait de la phosphorylation des laminas. Cette dépolarisation entraîne certainement la désagrégation de l'enveloppe nucléaire en petites molécules qui se dispersent dans le cytosol en même temps que le contenu nucléaire. Les laminas B restent associées à ces vésicules, les laminas A et C se dispersent. (Figure IV4)
En fin de mitose, lorsque les chromosomes fils se sont séparés, il se forme un noyau autour de chaque groupe de chromosomes.
La déphosphorylation des laminas permet leur repolymisation.

Les vésicules de l'enveloppe nucléaire sont alors liées et peuvent fusionner pour reformer l'enveloppe nucléaire.

Les complexes des pores nucléaires qui s'étaient dissociés se reforment. Les protéines possédant un signal de localisation nucléaire sont importées dans le noyau. Ces signaux ne sont pas éliminés après le transport dans le noyau puisque, à chaque division, les protéines doivent être importées.

En revanche, dans la majeure partie des protéines des autres organites, perdent leurs peptides signal lorsqu'elles ont été importées dans le compartiment de destination. Ceci parce qu'à chaque division, elles restent dans ce compartiment, on dit qu'elles ne sont pas, à nouveaux, transloquées.

B) Organisation des pores nucléaires

Les noyaux de toutes les cellules eucaryotes ont une enveloppe percée de pores dont la répartition est assez fréquente. (figure IV5)

On parle de « complexe de pores nucléaires », sa masse molaire est environ égale à 125.10^6Da, il est constitué de plus de 100 protéines différentes et présente une symétrie octogonale (suite légende figure IV6.)

Chaque complexe contient au moins un canal aqueux ouvert au travers duquel passent des petites molécules. En injectant des molécules de tailles différentes dans le cytoplasme, on a pu mesurer la taille de ces canaux (diamètre : 9 nm.) La diffusion passive qui se produit au travers des pores suppose le passage par ces canaux. Cependant, le diamètre de 9 nm est inférieur aux pores de 26nm mesurés en microscopie électronique.

- Diffusion passive : 9nm probablement entre les rayons.
- Transport actif : 26nm par un diagramme ou un bouchon.
(figure IV 7)

Beaucoup de protéines sont trop grosses pour diffuser au travers de ces complexes, ce qui permet au cytoplasme et au noyau de conserver leurs propres protéines et donc leurs propres réactions.

Les ribosomes matures ne peuvent pas diffuser au travers des pores. Ce qui garantit une synthèse protéique cytoplasmique, mais les sous-unités ribosomales sont préparées dans le noyau. Les ARN et ADN polymérases sont synthétisés dans le cytoplasme mais actives dans le noyau ⇨ tous ces constituants doivent passer au travers des pores. Il existe des récepteurs spécifiques dans les complexes qui permettent le transport de ces constituants (ouverture du diagramme…)

C) Le nucléole

C'est un sous-compartiment du noyau très organisé, non limité par une membrane. Le nucléole contient de fortes concentrations d'ADN et de protéines. Son rôle se situe dans la synthèse de l'ARN ribosomal (ARN_r) et dans l'assemblage des sous-unités du ribosome.
Au niveau du nucléole sont rassemblées des boucles d'ADN contenant un groupe de gène d'ARN_r. La transcription de ces multiples copies de gènes forme une provision adéquate en ARN_r qui est immédiatement condensée avec des protéines ribosomales pour former les sous-unités du ribosome. (Figure IV8)

La taille du nucléole dépend de son activité, donc elle varie d'une cellule à l'autre et au cours du temps dans une même cellule.

A la prophase, la condensation des chromosomes entraîne un arrêt de la synthèse des ARN_r ⇨ en général le nucléole disparaît. En métaphase, une cellule n'a pas de nucléole. A la télophase, le nucléole se décondense, de petits nucléoles apparaissent au niveau de chaque chromosome porteur de gène ARN_r.

Chez l'homme, les gènes d'ARN_r sont portés par 10 des 46 chromosomes. A la télophase, 10 petits nucléoles (rarement visibles) apparaissent pour former rapidement le seul et unique nucléole typique d'une cellule en interphase (regroupement des 10 chromosomes dans le noyau.) (Figure IV 9)

D) La chromatine

L'ADN de tous les chromosomes est empaqueté grâce à des protéines spécialisées. L'ensemble ADN – protéines est la chromatine.
Ces protéines sont appelées « protéines de liaisons à l'ADN. »
On distingue deux catégories :
- Les histones,
- Les protéines chromosomiques non-histones.

II) L'ADN – Support de l'information génétique

A la fin du 19e siècle, les biologistes avaient admis que les chromosomes étaient porteurs de l'information héréditaire (visibles au moment de la division.) Il a fallu attendre plusieurs années pour que la preuve que l'ADN de ces chromosomes était le matériel génétique apporté. En fait, il a fallu attendre des expériences réalisées sur des bactéries.

A) Expériences de transformation sur les pneumocoques

☞ 1928 F. Griffith (médecin anglais)
Il a travaillé sur une bactérie : *Streptococus pneumoniae*, cette bactérie a la particularité de synthétiser une capsule polyosidique, dont les propriétés antigéniques varient en fonction des souches et déterminent leurs appartenances à un sérotype capsulaire. On distingue une centaine de sérotypes dans les souches de pneumocoque.
En culture in vitro, les bactéries encapsulées forment, sur milieu solide, des colonies lisses, on les dit S (pour « Smooth. »)

Au cours de repiquage, certaines bactéries perdent la capacité de synthèse de la capsule et donnent des colonies rugueuses, colonie R (« Rough. »)

Griffith a voulu reproduire le phénomène in vivo sur un animal, la souris, parce qu'elle est sensible aux infections par les pneumocoques. (Figure IV10)

Première conclusion : ces trois expériences montrent que la virulence du pneumocoque est liée à la présence de la capsule et ne s'exprime que chez les bactéries vivantes, c'est-à-dire capables de se multiplier dans l'organisme infecté.

Deuxième conclusion (4e expérience) : résultat étonnant, il fallut presque 20 ans pour comprendre ce qu'on appelle la « transformation des bactéries » (S_1 mortes transformées grâce au R_3 vivantes en S_1 vivantes.)

☞ 1944 – Avery et ses collaborateurs

Ils ont prélevé de l'ADN de pneumocoques de type S qu'ils ont ajouté à des bactéries de types R en culture sur un milieu solide, ils ont observé des colonies lisses. ⇨ Principe transformant étant l'ADN.

Pour prouver cela, ils ont ajouté des ribonucléases (enzymes qui dégradent l'ARN) et des protéinases (enzymes qui dégradent les protéines) à leur culture, la transformation était toujours possible.
Inversement, des petites quantités de désoxyribonucléiques (enzymes qui dégradent l'ADN) empêchaient toutes transformations.
(Ces travaux n'ont pas été reconnus à leur juste valeur. Il a fallu 8 ans pour que la preuve soit formelle.)

B) Infection bactérienne par les bactériophages

☞ 1957 – A.Hershey et M.Chase
(Figure I 22)

ADN (virus) + bactéries
Particules virales
⇨ADN = Matériel génétique

On ne retient en général que les modèles de la double hélice décrite par Watson et Crick décris en 1953.

L'ADN n'est pas seulement cette molécule inerte et stable apte à être recopiée à l'infini, c'est une molécule « vivante » à la suite d'interactions avec des enzymes ou des protéines structurales. Elle peut se déformer en des sites précis pour permettre l'excrétion des gènes qui s'y trouvent.

III) Organisation de l'ADN

A) L'ADN : 1e niveau d'organisation = la double hélice

1 chaîne d'ADN = polymères de nucléotides
1 double hélice = 2 chaînes

Voir figure IV 11 à IV 17

B) L'ADN : 2e niveau d'organisation = la chromatine

Voir tableau IV2.
Génome contenu dans le noyau pour les eucaryotes et non chez les bactéries. Étant donné l'absence d'enveloppe nucléaire chez les procaryotes, la traduction des ARN messagers en protéines peut se faire avant que la transcription soit terminée.

Il ne faut pas penser à une désorganisation du chromosome bactérien, il n'est pas réparti au hasard dans la cellule, il est fait de boucles stabilisées à la base par une combinaison de protéines et d'ARN de soutien. (Figure IV18)
Ceci permet à des régions d'ADN d'être isolées topologiquement et donc pouvant avoir des activités différentes. Cela permet à la molécule d'ADN d'entrer dans la cellule (elle mesure sinon environ 1000 fois la longueur de la cellule !)

Le surenroulement de l'ADN procaryote est contrôlé par deux enzymes.
(figure IV 19)

Chez les bactéries, la longueur du génome est de l'ordre du millimètre et de l'ordre du mètre chez les eucaryotes.

Cette différence de taille n'est pas étonnante, étant donné la diversité et la complexité des processus mis en jeu chez les eucaryotes. Et pourtant, cette différence de taille et disproportionnelle.

Séquences nucléotidiques non-codantes :
Cette différence provient du fait que chez les eucaryotes de nombreuses séquences sont non-codantes : introns (séquences transcrites mais pas traduits.)

Nature du matériel chromosomique :
- Chez les bactéries, molécule unique circulaire et fermée.
- Chez les eucaryotes, plusieurs molécules non circulaires

Association ADN – histones :
- Bactérie non
- Eucaryotes oui

ADN extra-chromosomique :
- Bactéries : importantes plasmides, etc…
- Eucaryotes : peu important ADN mitochrondriale, etc…

Quand on parle d'une molécule d'ADN, elle est empaquetée avec des protéines, elle est chromosome.
On parle de génome pour l'information génétique totale dans les chromosomes.
Exemple : cellules humaines :
2 * 22 autosomes

2 chromosomes sexuels ⇨ 46 chromosomes

Génome diploïde : composés d'environ 6.10^9 paires de nucléotides, ce qui représente une longueur de 2m. La taille moyenne d'un chromosome est 6.10^9 / 46 = 130.10^6 paires de nucléotides, soit une longueur de 5 cm.
Une molécule d'ADN varie de 50.10^6 – 250.10^6 paires de nucléotides et varie de 1,7 à 8,5 cm de longueur.
Le repliement de l'ADN est indispensable pour permettre, au moins, l'entrée de la double hélice dans la cellule.

1) Premier niveau de repliement

Il correspond à la formation d'un filament de nucléosomes.
Les histones sont les principales protéines associées à l'ADN des eucaryotes. Leur masse dans la chromatine avoisine la masse de l'ADN. Ce sont des protéines qui ont une charge positive du fait de la présence d'acides aminés chargés positivement qui permet de se lier fortement à l'ADN (ayant des charges négatives au phosphate.) Les liaisons sont indépendantes de la séquence nucléotidique de l'ADN. Les histones ne se dissocient que très rarement de la double hélice. Elles ont donc certainement une influence sur les réactions qui s'y produisent.

Il existe cinq types d'histones :
- Les histones nucléosomiques : H_2A, H_2B, H_3 et H_4 : petites protéines qui interviennent dans le premier niveau de repliement,
- Les histones H_1, plus grosses, elles interviennent dans le deuxième niveau de repliement.

Elles jouent un rôle dans le repliement de l'ADN :
Elles permettent donc à des grandes molécules de rentrer dans la cellule.
Tout l'ADN n'est pas replié de la même façon. La manière dont une région du génome est empaquetée dans la chromatine semble influer sur l'activité des gènes qu'elle contient.

Les nucléosomes donnent, de la chromatine dépliée jusqu'au premier niveau de repliement, une apparence de collier de perle. (Voir figure IV20) La double hélice d'ADN s'étend comme un fil continu de nucléosome en nucléosome.

Les nucléosomes sont séparés d'un brin d'ADN dont la longueur varie. On appelle le segment d'ADN situé entre deux paires de nucléosomes : le segment internucléosomique, sa longueur varie de 0 à 80 paires de nucléotides. En moyenne, les nucléosomes se répètent toutes les 200 paires de nucléotides.

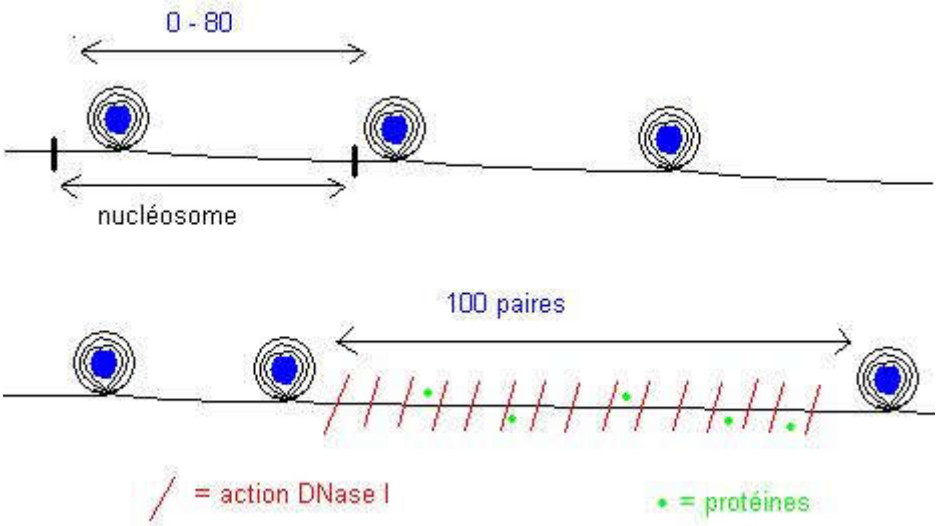
83 paires de nucléotides/tours
* 2 tours
+ 40 paires de nucléotides
_____
= 200 paires de nucléotides (dans une cellule humaine faite d'un génome de 6.10^9 paires de nucléotides à 3.10^7 nucléosomes.)

1e niveau de repliement = filament de nucléosome.

Généralement, les octamères d'histones ont une position fixe car leur liaison à l'ADN les empêche de glisser le long de la double hélice. Deux facteurs interviennent dans le placement préférentiel de ces octamères d'histones :

Le premier facteur est la compression considérable que doit subir le petit sillon autour de l'ADN. Cette compression est d'autant plus facile que le petit sillon est riche en paires de base A – T. (figure IV21)

Le deuxième facteur vient de la présence préalable de protéines liées à l'ADN et empêchant la formation des nucléosomes. Ces segments d'ADN dépourvus de nucléosomes, d'une longueur d'une centaine de nucléotides, peuvent être repérés par une digestion par désoxyribonucléase la DNase I. A faible concentration, cette enzyme dégrade les longs segments dépourvus de nucléosomes et non les courts segments d'ADN internucléosomique : on parle pour les longs segments, de « sites hypersensibles aux nucléases. »



L'ADN est recouvert par des nucléosomes et des protéines de réplication. Ces protéines jouent un rôle dans le contrôle de la transcription des gènes.

2) Deuxième niveau de repliement

La chromatine est sans doute très rarement sous la forme de filament de nucléosomes. Ces derniers subissent un empilement par les histones H_1 pour donner la fibre de chromatine. C'est une fibre de 30nm de diamètre, un modèle figure IV22 propose un arrangement des nucléosomes en hélices compactes solénoïdes.

Ces modèles représentent une structure idéalisée mais la longueur des segments d'ADN entre deux paires de nucléosomes étant variable (ADN internucléosomique, 0 à 80 paires de nucléotides et ADN dépourvu de nucléosomes, centaine de paires de chromosomes.) Cela entraîne des irrégularités dans cette structure, modèle proposée figure IV 23.

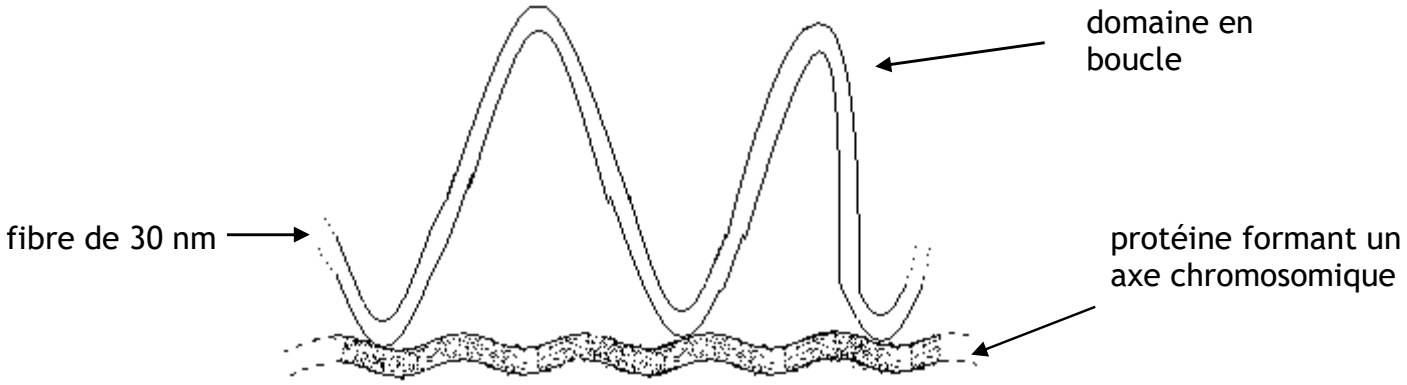
Participation des histones H_1 à l'empilement des nucléosomes. (figure IV 24)
Une histone H_1 a une partie centrale globulaire et deux « bras » déployés de part et d'autre correspondant à ses extrémités *amino-* (NH_2) et *carboxy-* terminales (COOH)

La protéine se lie par sa partie globulaire sur l'octamère d'histone là où l'ADN entre et sort. On suppose que les « bras » entrent en contact avec les histones H_1 du nucléosome adjacent pour former une rangée régulière.

Certains auteurs proposent un arrangement des histones H_1 à l'intérieur du solénoïde…

3) Troisième niveau de condensation : formation de bandes de chromatine

Sous la forme d'une fibre de chromatine, un chromosome classique aurait une longueur de l'ordre du millimètre, donc le troisième niveau de repliement est indispensable. La fibre de 30nm s'organise en boucle stabilisée à ses bases par un échafaudage de protéines non-histones.



Ce mode de repliement joue certainement un rôle important dans le contrôle de la transcription des gènes (boucles séparées les unes des autres et donc réactions différentes possibles.)

4) Niveau supplémentaire de compactage

Il existe deux types de chromatine, celle que l'on appelle « l'hétérochromatine » qui est une forme très condensée, y compris pendant l'interphase, et donc qui apparaît sombre au microscope. Elle représente environ 10% du génome. « L'euchromatine » est une forme moins condensée.

Cette condensation supplémentaire de la chromatine pourrait être responsable de l'inactivation des gènes. En effet, la majeure partie de l'ADN ainsi condensée est de l'ADN fortement redondant dans la cellule.
Il ne faut toutefois pas penser que tous les gènes inactifs sont sous forme d'hétérochromatine. En outre, on ne peut pas dire qu'aucune transcription n'a lieu au niveau de l'hétérochromatine.

Exemple : Chromosome X inactif chez les femelles de mammifères :
Dans les cellules, un chromosome sur deux est condensés, et donc inactif pour la transcription. Le chromosome est appelé Corpuscule de Barr.
Remarque : Pour la structure, voir chromosome mitotique.

IV) Les chromosomes

ADN = suite linéaire de nucléotides = information génétique de la cellule.
Cellules somatiques : 2n chromosomes – nombre diploïde
Cellules germinales : 1n chromosomes – nombre haploïde

Organismes	Levure	Drosophile	Poulet	Homme	Amphibiens
Quantité ADN par génome haploïde (pg)	0,015	0,15	1,3	3,3	90

Les vertébrés qui contiennent le plus d'ADN par cellule sont les amphibiens qui sont, pourtant, de comportement, et de structure, plus simple que l'homme.
Les végétaux ont également plus d'ADN par cellule que l'homme (blé, oignions.) Même dans une classe d'organismes (classes des insectes), la quantité d'ADN varie beaucoup.

Conclusion : Dans les organismes eucaryotes, une proportion variable d'ADN est non essentielle. C'est-à-dire qu'elle ne code pour aucune fonction indispensable.
On appelle « valeur C », la quantité totale d'ADN par génome haploïde.

L'absence de corrélation entre la complexité phylogénétique et la quantité totale d'ADN par cellule, s'appelle « le paradoxe de la valeur C. »

Les chromosomes d'eucaryotes comportent des proportions variables de régions d'ADN répété dont certaines ne sont jamais transcrites (voir hétérochromatine.)
Il y a aussi une absence de corrélation entre la complexité phylogénétique et le nombre de chromosomes :

Organismes	Homme	Chien	Cerf	Grenouille
Nombre diploïde de chromosomes	46	78	8	26

A) Évolution du chromosome au cours du cycle cellulaire

Phase G_1 : il se produit la transcription de la chromatine moins condensée (actine.) La phase de réplication se prépare.

Phase S : phase de synthèse de l'ADN. En avant du complexe de réplication, la chromatine est dépliée et, en arrière de ce complexe, les deux molécules d'ADN filles sont repliées. Il se produit donc une synthèse importante des histones (contrairement à la plupart des protéines qui sont synthétisées en continu.) L'assemblage des protéines chromosomiques avec l'ADN. (molécules filles)

En fin de la phase S, les deux chromatides sœurs sont liées.

Pendant cette phase et la phase G_2, la réplication des gènes continue.

Phase M : L'entrée d'une cellule en phase M peut se visualiser au microscope du fait de la condensation des chromosomes (prophase.)
Cette condensation s'accompagne d'une phosphorylation par le MPF des histones H1.
Le MPF : le Facteur Pro-Moteur de la Phase M, c'est un complexe protéique qui déclenche l'entrée en phase M.

On pense que la phosphorylation des histones H1 est responsable de la condensation des chromosomes.

Ensuite : Alignement des chromosomes (métaphase)
Séparation des chromosomes (anaphase)
Décondensation des chromosomes (télophase)

Mitose

L'intérêt de la condensation est la facilitation de la ségrégation des chromosomes à l'anaphase.

Pendant la phase M, Les chromosomes étant condensés, il n'y a plus de transcription.

A) Structure d'un chromosome

1) Le chromosome fonctionnel

Pour former un chromosome fonctionnel, une molécule d'ADN doit être capable de faire plus que diriger la synthèse d'ADN. Elle doit pouvoir se propager de façon fiable d'une génération à l'autre. Pour cela, trois types de séquences nucléotidiques spécifiques sont dans l'ADN. (figure IV26)

- 1e type : les origines de réplication :
Ce sont les sites au niveau desquels les enzymes de la réplication viennent se lier.

- 2e type : le centromère :
Il permet aux chromatides de s'attacher au fuseau mitotique et il maintient les chromatides liées entre elles.

- 3e type : les télomères :
Ce sont des séquences situées aux deux extrémités d'une molécule d'ADN. Le complexe de réplication a besoin de nucléotides en avant de la séquence à copier.

S'il n'existait pas de télomères sur un ADN, des nucléotides seraient perdus à chaque cycle et donc ce serait de l'information génétique qui serait perdue. Les télomères sont des séquences nucléotidiques répétées, ajoutées aux extrémités des molécules d'ADN à chaque cycle, ceci par une enzyme : la télomèrase.

2) Le chromosome mitotique

C'est la chromatine dans son état le plus condensé. Cette condensation correspond à un enroulement en hélices serrées des boucles. Cette structure est similaire dans le cas de l'hétérochromatine. (figure IV27)

B) Le caryotype

C'est le nombre, la taille et la forme des chromosomes métaphasiques.
Le classement est fait par taille décroissante des paires de chromosome homologues. La position du centromère varie. Lorsqu'il est au milieu, on dit que le chromosome est métacentrique (paire 1), lorsqu'il est près d'une extrémité, le chromosome est acrocentrique (paire 4) et lorsqu'il est à l'extrémité, le chromosome est télocentrique (paire 14.)

Malgré ces différences, il n'est pas facile de classer les chromosomes. On effectue alors un marquage mitotique. On utilise des colorants fluorescents qui se lient sur des séquences spécifiques de l'ADN et donnent ainsi un profil de striation caractéristique de chaque paire. (figure IV29)

Quinacrine ⇨ bandes Q
Réactif de Giemsa ⇨ bandes G (reconnaît les liaisons A – T)
Solution alcaline chaude + réactif de Giemsa ⇨ bandes R (reconnaît G – C)

★ LA MITOSE ET LE CYCLE CELLULAIRE (TP)

On peut diviser le cycle cellulaire en deux grandes périodes : L'interphase et la division cellulaire.

I) L'Interphase

Pendant l'interphase, la cellule croît et accomplit la majeure partie de ces activités.

L'Interphase est l'intervalle entre la formation de la cellule et sa division..
Longtemps, on a cru que l'interphase était une phase de repos ; cela n'était pas le cas, car beaucoup de choses ont lieu durant cette période.
Au cours de l'interphase, la cellule effectue toutes ses fonctions normales, les actions indispensables à sa croissance et elle prépare sa division cellulaire. La cellule est donc active.

L'interphase se divise en trois sous-phases :
- G1 : les cellules synthétisent les protéines et croissent considérablement. A la fin de G1, des organites appelés centrioles, commencent à ce répliquer.
- S : Synthèse : pendant cette période il y a réplication de l'ADN.
- G2 : les enzymes et les protéines nécessaires à la division sont synthétis2 à l'endroit approprié. A la fin de G2, les centrioles finissent de se répliquer puis l'interphase est terminée.

Remarque : Pendant S et G2, la cellule continue de croître et d'accomplir ses activités de routines. L'interphase dure 90% du cycle cellulaire, la division est par conséquent très courte (10%.)

Il existe des différences dans la durée des cycles cellulaires. Ces différences sont dues principalement à la durée de G1. Des cellules peuvent rester en G1 des jours voire des années !

Au contraire, le temps que met une cellule pour passer du début de la phase S au début de la division est constant. Il est possible de ralentir ou d'arrêter la division cellulaire en culture. Lorsque de la division cellulaire, on se rend compte que dans tous les cas, la cellule s'arrête en G1.

Il existe un point de non-retour : le point R ou « point de restriction », situé à un stade tardif de G1, qui, une fois dépassé, implique que les cellules finissent leur cycle cellulaire quelque soit les conditions extérieures.

Il est possible de déterminer la durée du cycle cellulaire et des phases qui le constitue (interphase et division cellulaire.)
Pour déterminer la durée d'un cycle complet, on mesure la durée que des cellules en culture mettent pour doubler.

Pour la phase S, on incorpore un isotope Timidine trissé à l'ADN à une culture. Lors de S, il y a synthèse de l'ADN donc en comptant les cellules ayant absorbé l'isotope, divisé par le total des cellules multipliées sur le total du cycle, on obtient la durée du cycle S.
Les durées de G1 et G2 sont difficiles à déterminer car les événements difficiles à mettre en évidence.

Pour la phase M (mitose) : il faut déterminer la fraction de cellule qui contient des chromosomes très condensés : (nombre de cellules en mitose = chromosomes condensés / nombre total de cellules) * temps total = index mitotique.

II) Évènements pendant l'interphase

A) Réplication des centrioles

Évènement spécifique des cellules animales, les centrioles sont des petits « tonneau » à l'extérieur de la cellule. Une paire de centriole = un centrosome.

En début de sous phase G1, le centrosome se situe au pole du noyau.
Au milieu de G1, les centrioles se séparent.
A la fin de G1, début de S, chaque centriole sert de modèle pour la formation d'un nouveau centriole.
A la fin de G2, les centrioles fils obtiennent la même taille que les centrioles mères. On obtient deux paires de centrioles. Après division cellulaire, chaque cellule aura une paire de centrioles à son pôle.

B) Réplication de l'ADN

On ne sait pas ce qui amorce la réplication mais on sait que c'est un processus qui fonctionne en tout ou rien. Une fois la phase S commencée, la réplication se finit jusqu'à ce que tout l'ADN soit répliqué.

ADN : polycondensat de trois éléments : acide phosphorique, désoxyribose et base organique azotée.

Il a une forme déroulée, d'une échelle dont les montants sont l'acide phosphorique et le désoxyribose, et les barreaux, des molécules d'hydrogène associées aux bases azotées.

Dans la sous-phase S, la réplication commence par le déroulement de la double hélice, les liaisons hydrogènes entre les bases sont rompues, on obtient alors deux brins d'ADN qui forment une fourche de réplication (en Y.)
Chaque brin sert de matrice pour le nouveau brin.
L'enzyme, l'ADN polymérase, va permettre la formation d'un nouveau brin.

A la fin de la réplication de l'ADN, on va avoir deux molécules d'ADN ayant un brin original et un brin nouveau ⇨ Réplication semi-conservatrice.
Avant la division, la molécule d'ADN est décondensée et va s'enrouler autour des protéines globulaires histones pour former la chromatides ⇨ chromosomes décondensés.

III) La division cellulaire

La division cellulaire comprend la mitose et la cytodiérèse, pour essentiellement les eucaryotes (≠ bactéries) animales.

La division cellulaire des sujets eucaryotes se fait en 6 étapes : les cinq premières sont celles de la mitose (= division du noyau) et la sixième est la cytodiérèse (= division du cytoplasme.)

A) La mitose

Ces six étapes forment une séquence dynamique et continue :

1) Première phase de la mitose : la prophase

La chromatine se condense en chromosome bien défini dont le nombre dépend de l'espèce. Chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs, reliées en une région nommée « centromère. »

Dans le noyau, une structure appelée « nucléole » (= 1 ou 2 par noyau) est présente en interphase (tache sombre.) A l'inverse, en mitose, le nucléole n'existe plus. En prophase, il est encore là, mais disparaît.

Le nucléole est constitué d'ARN ribosomal qui rentre dans la synthèse des ribosomes. Ces derniers n'étant plus d'aucune utilité pour la cellule, ils disparaissent, d'où la disparition des nucléoles.

Dans le cytoplasme de la cellule, il y a des microtubules qui sont une réserve de molécules de tubulines. Elles vont se dépolymériser (se couper en morceaux.) Les molécules qui en découlent vont servir à la formation d'un fuseau mitotique. Ce fuseau est un fuseau bipolaire formé de microtubules.
Dans les cellules animales, les centrosomes sont le centre organisateur des fuseaux mitotiques.

Les deux paires centrioles sont entourées d'un faisceau radical de microtubules qui forme, chacun, un aster (forme d'étoile.) Avant la mitose, ces deux asters sont côte à côte, puis, en prophase, ils vont s'écarter par interaction et c'est cette interaction qui commence à former le fuseau.

2) Deuxième phase de la mitose : la pré-métaphase ou pro-métaphase

Elle débute brutalement par la rupture de l'enveloppe nucléaire. Les fragments vont rester dans la cellule. Le fuseau prend place au centre de la cellule.
Au niveau du centromère, se forment des structures : kinétochores (petit amas, placés de part et d'autre du centromère.) Des microtubules se fixent au niveau des kinétochores, ce sera des micro-tubulines kinétochoriennes.

Il y a donc deux sortes de fuseaux : les microtubules polaires qui ne passent pas par le chromosome et les microtubules kinétochoriennes qui passent le chromosome.
Ces microtubules kinétochoriennes vont exercer des forces de tensions sur les chromosomes qui vont être animés de mouvement désordonné (chromosomes éparpillés.)

3) Troisième phase de la mitose : la métaphase

Les forces de tensions vont s'équilibrer de sorte que les chromosomes vont être disposés sur le même plan : le plan équatorial.

4) Quatrième phase de la mitose : l'anaphase

L'anaphase commence brusquement lorsque les chromosomes se séparent. Ils se séparent car l'ADN centromérique se réplique et les deux chromatides sont séparées. Les micro-tubulines kinétochoriennes se raccourcissent, ce qui a pour effet de tirer chaque chromatide de chaque pôle de la cellule.

Les microtubules polaires s'allongent, la cellule devient alors ovale.

5) Cinquième phase de la mitose : la télophase

Les micro-tubulines kinétochoriennes disparaissent, les micro-tubulines polaires s'allongent davantage. Une nouvelle enveloppe nucléaire se forme autour de chaque lot de chromatides. Les chromatides se décondensent en chromatines. Le nucléole commence à apparaître. La mitose est terminée.

B) La cytodiérèse

Elle consiste à la division du cytoplasme.
Elle commence lors de l'anaphase et se termine en télophase.

1) Pour les cellules eucaryotes animales

Elle s'effectue par segmentation : la membrane plasmique s'invagine autour du centre de la cellule, perpendiculairement à l'axe du fuseau.
Un anneau contractile, formé de filaments d'actine et de chromatine, va se contracter ; d'où un resserrement appelé « sillon de division. » Ce sillon se creuse jusqu'à atteindre les restes du fuseau mitotique. Le pont étroit formé à ce stade s'appelle le « corps intermédiaire. » Ce corps peut persister pendant quelque temps puis fini par se rétrécir et se rompre pour laisser deux cellules filles complètes et séparées.

2) Pour les cellules eucaryotes végétales

Les cellules végétales ont, en plus d'une membrane plasmique, une membrane avec de la cellulose (de forme carrée.) Dans les cellules végétales, il n'y a pas de centriole, donc pas d'aster.
La cytodiérèse : les vésicules, de l'appareil de Golgi, vont se rassembler sur le plan équatorial puis vont fusionner pour former une plaque qui va grandir jusqu'à relier les deux cotés et former deux nouvelles cellules filles.

3) Pour les procaryotes (bactéries)

Les cellules procaryotes ne possèdent qu'un seul chromosome circulaire. Le mode de division des bactéries est la scissiparité. Le chromosome est relié à la membrane. Il y a réplication du chromosome. La membrane plasmique croît, s'invagine et se rompt, formant deux cellules filles.